Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
des Klinikums Steglitz der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Helmut Kewitz

ZUR PHARMAKOKINETIK VON TRITIUMMARKIERTEM G-STROPHANTIN (OUABAIN) IN DER RATTE IN VIVO UND IN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN LEBER IN VITRO

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Böhme, Frank
aus Dresden

1976

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
des Klinikums Steglitz der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. Helmut Kewitz

ZUR PHARMAKOKINETIK VON TRITIUMMARKIERTEM G-STROPHANTIN (OUABAIN) IN DER RATTE IN VIVO UND IN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN LEBER IN VITRO

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Böhme, Frank
aus Dresden

Referent: Prof. Dr. Norbert Rietbrock

Korreferent: Professor Dr. Bruno Müller-Oerlinghausen

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 30. Januar 1976

ZUR PHARMAKOKINETIK VON TRITIUMMARKIERTEM G - STROPHANTIN (OUABAIN) IN DER RATTE IN VIVO UND IN DER ISOLIERT PERFUNDIERTEN LEBER IN VITRO

I. E I N L E I T U N G

Alle bekannten Herzglykoside haben als Grundstruktur ein Steroidgerüst, in dem die vier Ringe in cis-trans-cis-Stellung miteinander verknüpft sind, in C_{17}-Stellung einen ungesättigten Lactonring und in C_3- und C_{14}-Stellung je eine Hydroxylgruppe. Neben der glykosidisch mit der OH-Gruppe des C_3-Atoms verknüpften Zuckerkomponente unterscheiden sich die Herzglykoside durch Art und Stellung der Substituenten an C_1, C_5, C_{10}, C_{11}, C_{12} und C_{16}. Die Substituenten von Ouabain (g-Strophantin) an C_1, C_5 und C_{11} sind je eine Hydroxylgruppe, an C_{10} eine Methylgruppe. Alle übrigen C-Bindungsstellen sind mit Wasserstoff gesättigt. Die Zuckerkomponente ist L-Rhamnose.

Enterale Resorption

Die erste Methode, die enterale Resorption herzwirksamer Glykoside zu bestimmen, bestand in der enteralen Gabe und anschließender intravenöser Auffüllung bis zum Erreichen der Letaldosis (HATCHER 1919). Mit dieser Methode ergaben sich für Ouabain sehr unterschiedliche Ergebnisse. So konnte REINERT (1952) nach fünf Stunden bei Katzen über 60 % der Letaldosis als resorbiert nachweisen, NYARA (1932) 40 % und SVEC (1937) 10 %. LAUTERBACH und VOGEL (1960) fanden ebenso an Katzen 5 % der enteralen DL 100 zu 18 % und 80 % nur zu 6 %

nach 90 Minuten resorbiert, mithin eine Konzentrationsabhängigkeit der enteralen Wirksamkeit.

Durch die Einführung C_{14} markierter Herzglykoside (OKITA 1955) und später tritium-markierter Herzglykoside konnten die aufwendigen chemischen Nachweismethoden ergänzt werden.

Die Technik der Durchströmung isolierter Jejunumsegmente (FISHER und PARSONS 1949), die der durchbluteten Darmschlinge in situ und die everted-sac-Methode (WILSON und WISEMAN 1957) stellen direkte Nachweismethoden der enteralen Resorption dar. FORTH, FURUKAWA und RUMMEL (1969) fanden mit diesen Methoden folgende Werte für die enterale Resorption von Ouabain: 3,8 % an der isolierten Jejunumschlinge der Ratte, 15 % an der durchbluteten Darmschlinge des Meerschweinchens nach je zwei Stunden und nach 20 Minuten 10 % an der in situ abgebundenen Jejunumschlinge.

LAHRTZ, SATTLER und VAN ZWIETEN (1968) verabreichten Katzen 3H-g-Strophantin per os und intraduodenal und fanden dabei stark auseinanderliegende Werte für die Serumradioaktivität der einzelnen Tiere. Die Radioaktivität im Serum nach oraler Gabe einer wäßrigen 3H-g-Strophantinlösung bei einigen menschlichen Probanden (1 µC/kg) wurde ebenso untersucht. Nach 24 Stunden konnte keine Radioaktivität im Serum mehr festgestellt werden, jedoch

waren etwa 0,5 - 2 % der verabreichten Dosis bei den menschlichen Probanden im Urin wiederzufinden. Bei allen untersuchten Katzen war mit dem Urin erheblich mehr radioaktives Material ausgeschieden worden als mit der Galle.

MARZO et al. (1970) gaben Meerschweinchen H^3-Ouabain oral und definierten die Summe allen außerhalb des Gastrointestinaltraktes gefundenen H^3-Ouabains als intestinale Resorption. Es waren 3,6 %, 6 - 7 % und 9,5 % nach 1,5 beziehungsweise 15 Stunden. Dabei fanden sie im Bereich von 250 bis 1000 µg/kg lineare Abhängigkeit der resorbierten Menge von der Dosis ebenso wie FORTH (1969) eine lineare Zunahme der Konzentration im Resorbat in Abhängigkeit von der angebotenen Glykosidkonzentration fand.

Elimination

FARAH (1946) wies bei Ratten mit biologischen Methoden eine biläre Exkretion von Ouabain nach intravenöser Gabe von 80 bis 85 % innerhalb von vier Stunden nach. Diese Ergebnisse konnten von COX, ROXBURGH und WRIGHT (1959) insofern bestätigt werden, als sie etwa 90 % der Dosis nach fünf Stunden in der Galle wiederfanden und 4,5 % im Urin. Bei anurischen Ratten konnten KUPFERBERG, LEWIS und SCHANKER nach 90 Minuten sogar 85 $\pm$ 3 % Ouabain als über die Galle eliminiert nachweisen.

Untersuchungen von KOLENDA, LÜLLMANN und PETERS (1971) an der isoliert perfundierten Meerschweinchenleber zeigten nach dreistündiger Perfusion keine Ausscheidung über die Leber und ebenso keine Metabolisierung von Ouabain. Die Resultate von KUPFERBERG und SCHANKER (1968) zeigen, daß der Transport von Ouabain vom Plasma in die Galle entgegen einem Konzentrationsgradienten abläuft. Dieser Galle-Plasma-Quotient beträgt hier 147 - 557.

Speciesunterschiede in der Toxizität von Herzglykosiden wurden von REPKE (1965), DETWEILER (1967) und OKITA (1967) beschrieben. Der Grund dafür lag sowohl nach REPKE als auch nach ALLEN und SCHWARTZ (1969) in der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Na^+, K^+-Adenosin-Triphosphatase. RUSSELL und KLAASSEN (1972) schlugen vor, daß die hohe biläre Exkretion von Ouabain bei der Ratte zu der hohen Resistenz beitragen könne.

RUSSELL und KLAASSEN (1972) finden in der Untersuchung über Speciesunterschiede in der bilären Exkretion von Ouabain für die Ratte Werte von 41,7 $\pm$ 1,8 % (von 0 - 2 Stunden) und 54,6 $\pm$ 2,68 % (von 0 - 12 Stunden) nach intravenöser Gabe, dagegen beim Kaninchen nur 1,54 $\pm$ 0,23 % bzw. 4,37 $\pm$ 0,45 % und beim Hund 0,47 $\pm$ 0,12 % bzw. 1,31 $\pm$ 0,32 %.

II. P R O B L E M S T E L L U N G

Es ist seit langem bekannt, daß Ouabain bei der Ratte vorwiegend über die Galle eliminiert wird. Die quantitativen Angaben darüber differieren jedoch erheblich (KUPFERBERG, 1968, FARAH, 1946, COX, ROXBURGH und WRIGHT, 1959, RUSSELL und KLAASSEN, 1972).

Durch die Benutzung radioaktiv markierter Herzglykoside konnte in den letzten Jahren die Pharmakodynamik vieler dieser Substanzen besser beobachtet werden als zu der Zeit, als vorwiegend chemische und indirekte biologische Nachweismethoden benutzt werden mußten. Die intestinale Resorption und der enterohepatische Kreislauf des Ouabains werden jedoch immer noch widersprüchlich dargestellt (LAUTERBACH und VOGEL, 1968, COX, ROXBURGH und WRIGHT, 1959, FORTH, FUKURAWA und RUMMEL, 1969, MARZO et al., 1970).

Die Problemstellung in dieser Arbeit umfaßt:

1) Untersuchung der Ouabainelimination über die Galle an der isoliert perfundierten Rattenleber in verschiedenen Konzentrationsbereichen.

2) Elimination und Verteilung von Ouabain bei der Ratte nach intravenöser Applikation mit Galleableitung.

3) Elimination und Verteilung von Ouabain nach intravenöser Applikation mit Galleableitung und intraduodenaler Rückleitung

4) Elimination und Verteilung von Ouabain nach intraduodenaler Applikation mit Galleableitung.

III. M E T H O D I K

A Versuchstiere und Substanzen

Alle Versuche wurden an weiblichen Sprague-Dawley Ratten (SPF Ratten der Firma MUS Rattus) durchgeführt. Das Körpergewicht der Tiere betrug bei Versuchsbeginn 180 - 200 g. Als Ernährung dienten Altromin R-Trockenfutter und Leitungswasser. Zehn bis sechzehn Stunden vor Versuchsbeginn wurde den Tieren das Trockenfutter entzogen. Von diesem Zeitpunkt an befanden sie sich bei Raumtemperatur in einem Stoffwechselkäfig, der die Wiederaufnahme von Kot und Harn nicht zuließ.

Als Untersuchungssubstanzen dienten H^3-Ouabain der Firma NEW ENGLAND NUCLEAR und g-Strophantin krist. reinst (Ouabain) der Firma E. MERCK AG Darmstadt. Das radioaktive Glykosid war in einem Gemisch aus neun Teilen Äthanol und einem Teil Benzol gelöst.

Zur Herstellung der Injektionslösung wurde die H^3-Ouabain-Lösung eingedampft und in 2 ml einer 0,9 % NaCl-Lösung mit 40 Volumenprozent Äthanol wieder gelöst. Gegebenenfalls wurde den Injektionslösungen unmarkiertes Ouabain zugesetzt.

B Isoliert perfundierte Rattenleber

Die zu den Versuchen an isoliert perfundierten Rattenlebern verwandten Tiere erhielten zur

Narkose 1 g/kg Körpergewicht Urethan als 20 %ige Lösung intraperitoneal appliziert.

Zuerst wurde ein Hautschnitt von der Symphyse bis zur Halsregion gelegt und die Haut nach lateral stumpf ca. einen Zentimeter abpräpariert. Das Abdomen wurde durch Elektrokoagulation in der Medianlinie von der Symphyse bis zum Sternum und von der Symphyse ca. einen Zentimeter nach lateral eröffnet. Nach Darstellung des Ductus choledochus in seinem mittleren Abschnitt wurde dieser mit einem PVC-Schlauch P_2 der Firma B. BRAUN MELSUNGEN (innerer Durchmesser 0,5 mm, äußerer Durchmesser 1,0 mm) katheterisiert und dieser mit einem Faden fixiert.

Anschließend wurde eine lockere Schlinge um die Vena cava inferior cranial der Venae renales und um die Arteria hepatica gelegt. Zur Herabsetzung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes erhielten die Tiere nun 100 IE Heparin intravenös (= 1ml Vetren der Firma PROMANTA Hamburg). Die Vena porta wurde mit einem mit Krebs-Henseleit-Lösung gefüllten PVC-Schlauch P_4 (innerer Ø 1,0 mm, äußerer Ø 1,8 mm) luftblasenfrei katheterisiert. Danach wurde der Thorax eröffnet, das rechte Herzohr angeschnitten und ein Katheter in der Vena cava inferior cranial der Lebervenen fixiert. Sofort wurden nun der Vena-cava-Katheter an das Perfusionssystem angeschlossen und gleichzeitig die bereits angeschlungene Vena cava inferior und Art. hepatica ligiert.

Vom Katheterisieren der Vena porta bis zum Anschluß an das Perfusionssystem vergingen weniger als fünf Minuten, vom Katheterisieren der Vena cava inferior bis zum Anschluß der Vena porta weniger als 15 Sekunden.

Die Leber wurde nun ca. 20 Minuten mit dem Perfusionsblut zur Überwindung des "anaeroben Status" (HOHORST und Mitarb. 1959) und zur Herstellung eines hämodynamischen Gleichgewichtes durchströmt. Der Leberdurchfluß wurde bestimmt, die jeweilige Ouabainmenge zugesetzt und ein Leerwert entnommen. In bestimmten Zeitabständen wurden jeweils 50 - 100µl Blut posthepatisch zur Analyse in einem PVC-Schlauch entnommen.

Die Galle wurde vier Stunden lang in Fraktionen von je 15 Minuten gesammelt. Leberdurchfluß, Hämatokrit und Gallefluß wurden über die Versuchsdauer kontrolliert. Während des Versuches blieben die Temperatur des Versuchsraumes, der Gasdurchfluß durch das System und die Drehgeschwindigkeit der Blutförderpumpe konstant.

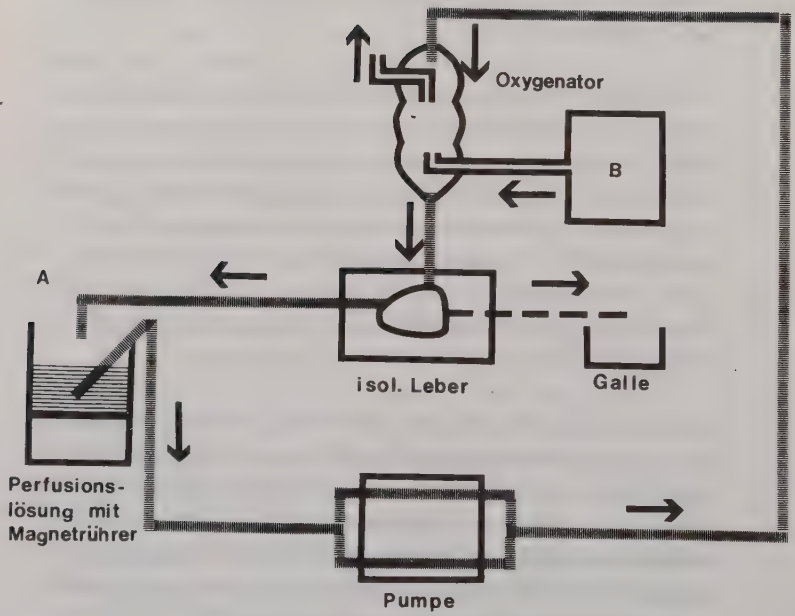

Abb. 1 Perfusionssystem der isoliert perfundierten Rattenleber

(▥): Perfusionsflüssigkeit;

(➡): Strömungsrichtung der Perfusionsflüssigkeit, des Gases B (O_2, 0,25 l/min) und der Galle;

A : Perfusionslösung mit Magnetrührer

Alle Versuche an der isoliert perfundierten Rattenleber erfüllten folgende Bedingungen:

1. Der Leberdurchfluß lag zwischen 8 und 12 ml/min.
2. Der Gallefluß betrug 0,9 - 1,5 ml/4 Std.
3. Der Hämatokrit bewegte sich zwischen 30 % und 35 %.

Das Perfusionsblut hatte folgende Zusammensetzung:

1. Nährlösung nach Krebs-Henseleit (Reagentien siehe THER 1965) mit einem Zusatz von fünf Teilen 5,4 %iger Glucoselösung. 60 ml dieser Nährlösung wurden
2. 1,5 g Serumalbumin vom Rind, trocken, reinst, der Behringwerke AG und
3. 40 ml Rindererythrozyten zugesetzt. Diese wurden durch Zentrifugieren heparinisierten Rinderblutes, Verwerfen des Überstandes und dreimaliges Waschen des Zentrifugates, zweimal in 0,9 %iger NaCl-Lösung, einmal in Nährlösung mit jeweils anschließendem Zentrifugieren und Absaugen des Überstandes, gewonnen.

Es wurden vier Perfusionsversuche mit 0,75 γ , 30 γ , 75 γ und 150 γ Ouabain durchgeführt.

C Ableitungsversuche

Die Versuchstiere wurden bis zum Eintritt der Narkose ebenso vorbereitet wie die für die Versuche

an den isoliert perfundierten Lebern. Nach einem kleinen Hautschnitt im lateralen Halsbereich wurden die Art. carotis communis und im Falle einer i. v. Applikation von Ouabain zusätzlich die Vena jugularis dargestellt. In die Arterie wurde nach vorherigem Abklemmen mittels einer Arterienklemme ein PVC-Katheter P_2 eingebunden und der craniale Teil der Arterie ligiert. Durch kurzzeitiges Öffnen der Arterienklemme konnten in einem über den Katheter gezogenen Schlauch Blutproben entnommen werden.

In der Medianlinie wurden mit einem ca. 2 cm langen Längsschnitt am Oberbauch die Bauchhöhle eröffnet und der ductus choledochus dargestellt. Dieser wurde in beiden Richtungen mit je einem PVC-Schlauch P_2 katheterisiert, wobei der darmwärts liegende Schlauch 1 - 2 cm in das Dünndarmlumen vorgeschoben wurde.

Das weitere Vorgehen unterteilte sich in drei Gruppen:

1. Intravenöse Gabe von ^{3}H-Ouabain

   a) 15 Ratten wurden je 0,7 - 1,5 γ ^{3}H-Ouabain in 0,3 ml einer alkoholischen Lösung (40 % Äthanol in 0,9 % NaCl-Lösung) durch einen Vena jugularis-Katheter langsam injiziert.
   Bei fünf Ratten wurden in bestimmten Abständen zwölf Stunden lang für je drei Minuten Galleproben in einem PVC-Schlauch gesammelt und Blutproben aus dem Carotis-Katheter entnommen. Die Gesamtmenge entnommenen Blutes lag zwischen 0,5 und 1,1 ml.

Der Sammelurin wurde in einem Reagenzglas abgefangen. Zwölf Stunden nach Versuchsbeginn wurden die Tiere durch Dekapitieren getötet. Der in der Blase befindliche Urin wurde unter Sicht abpunktiert. Anschließend wurden Herz, Nieren, Nebennieren, Magen, Dünndarm, Dickdarm, Leber Gehirn und ein Stück Muskulatur herauspräpariert und gewogen.

b) Je zwei Ratten wurden bereits nach 30 min., 1 h, 2 h, 4 h und 8 h dekapitiert und wie oben aufgearbeitet.

2. Intravenöse Gabe von ^{3}H-Ouabain mit Galleruckleitung

Acht Ratten wurden operativ wie oben vorbereitet. Die abgeleitete Galle wurde ihnen allerdings über ein Verbindungsstück durch den im distalen Anteil des im Ductus choledochus liegenden Katheters wieder intraduodenal zugeführt. Diese Tiere bekamen ebenfalls je 0,5 - 1,5 γ ^{3}H-Ouabain in 0,3 ml einer alkoholischen Kochsalzlösung intravenös injiziert. Es wurden ebenso Harn gesammelt, Blut und Galleproben über zwölf Stunden entnommen und nach Dekapitation den Tieren die Organe entfernt und gewogen.

3. Intraduodenale Gabe von ^{3}H-Ouabain

a) Nach der bereits beschriebenen Vorbereitung der Tiere wurde ihnen in diesem Falle die Lösung durch den im Duodenum mündenen distalen Gallengangskatheter zugeführt. Es

wurden in 0,3 ml Lösung 1,5 - 3,0 γ ^{3}H-Ouabain appliziert. Die Zahl der Versuchstiere betrug dreizehn. Aufgrund der niedrigen Blutkonzentration von ^{3}H-Ouabain wurde gegenüber den vorigen Gruppen die Zahl der Blutentnahmen herabgesetzt, um ihre Einzelvolumina heraufsetzen zu können, ohne ein Gesamtvolumen von 1,1 ml zu überschreiten.
Urin und Galle wurden wie in den vorigen Gruppen gesammelt und die Tiere nach zwölf Stunden dekapitiert und aufgearbeitet.

b) Zusätzlich wurden je zwei Ratten bereits nach 30 min., 1h , 2 h, 4 h und 8 h dekapitiert und aufgearbeitet, nachdem sie intraduodenal ^{3}H-Ouabain injiziert bekommen hatten.
Im Falle, daß die Versuchsdauer zwei Stunden überschritt, wurde den jeweiligen Tieren von einem Choledochus-Katheter eines Spendertieres Galle über ihren distalen Choledochuskatheter intraduodenal substituiert. Die Tiere befanden sich während des Versuches in einem auf 37° C temperierten Käfig.

D Analytische Methoden

1. Vorversuche zur Extraktion von ^{3}H-Ouabain

Ein Gramm Leber und Gehirn wurden jeweils nach Zusatz von 10 ml physiol. NaCl-Lösung homogenisiert. Je einem Milliliter des Homogenats wurde eine bestimmte Menge ^{3}H-Ouabain zugesetzt und zehn Minuten inkubiert. Nach Auffüllen mit der jeweiligen

Extraktionsflüssigkeit (Äthanol, H_2O) auf 10 ml wurde das Gemisch zwei Minuten geschüttelt und anschließend zwei Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Vom Überstand wurde 1 ml zur Zählung in den Flüssigkeitsszintillator eingesetzt. Dabei zeigte es sich, daß ^{3}H-Ouabain aus den Geweben vollständig extrahiert wird.

2. Bestimmung des ^{3}H-Ouabain

a) In der Galle:
Die in den Meßperioden gesammelte Galle wurde direkt in die zur später beschriebenen Flüssigkeitsszintillationsmessung vorgesehenen Plastikbecher gefüllt.
Die zwischen den Meßperioden in einem Reagenzglas aufgefangene Galle wurde mit 96 % Äthanol aufgefüllt auf 20 ml und gemischt.
Zur Messung wurde eine Reihe Proben (20 µl - 0,5 ml) eingesetzt.

b) Im Urin:
Der während der jeweiligen Meßperiode gesammelte Urin wurde mit 96 % Äthanol auf 20 ml verdünnt, zentrifugiert und Proben zur Zählung eingesetzt.

c) Im Plasma:
Nach der Blutentnahme in PVC-Schläuchen P_4 wurden diese drei Minuten bei 8000 U/min in einer Sorvall-Gefrierzentrifuge abzentrifugiert. Danach wurden die Schläuche an der Phasengrenze durchgeschnitten und das Plasma direkt zur Szintillationszählung eingesetzt. Die Schläuche wurden vor und nach dem Einsetzen

des Plasmas gewogen. Im Falle, daß mehr als 0,1 ml Plasma pro Messung eingesetzt worden war, wurde thixotropes Gel zugesetzt.

d) Im Gesamtblut:
Blutproben wurden in PVC-Schläuchen gesammelt und die Schläuche gewogen. Anschließend wurde der Inhalt der Schläuche in ein Reagenzglas ausgeblasen, und die leeren Schläuche wurden wiederum gewogen. Zur Extraktion wurden 2 ml Äthanol zugesetzt und gemischt. Nach Zentrifugieren wurde 1 ml des Überstandes zur Messung eingesetzt.

e) In den Erythrozyten:
Die Blutproben wurden wie oben beschrieben zentrifugiert, an der Phasengrenze durchgeschnitten, und das Zentrifugat wurde gewogen. Durch Zusatz von 2 ml 96 % Äthanol und Mischen wurde das ^{3}H-Ouabain extrahiert. Nach nochmaligem Zentrifugieren wurde 1ml des Überstandes zur Messung eingesetzt.

f) In den Organen:
Herz, Gehirn, Nieren, Nebennieren und Muskelproben wurden mit je 10 ml, Magen, Dünndarm, Dickdarm und Leber wurden mit je 20 ml Äthanol versetzt. Mit einem ULTRA-TURRAX-Stabhomogenisator wurden die Organe homogenisiert und in einer Sorvall-Gefrierzentrifuge fünf Minuten bei 5000 U/min zentrifugiert. Eine bestimmte Menge des Überstandes (50 µl, 100 µl, 0,5 ml und 1 ml) wurde zur Messung eingesetzt.

3. Messung der Radioaktivität von ^{3}H-Ouabain

Die radioaktiven Proben wurden in einem Liquid Szintillation Spectrometer, Modell 3380, der Packard Instrument Company, inc., gemessen. Die Meßdauer betrug 2, 15 und 20 Minuten. Die dem Gerät angeschlossene Recheneinheit gab die Meßwerte in Zerfällen pro Minute (TPM = total counts per minute) an.
Den jeweiligen Proben wurden 10 ml Szintillationsflüssigkeit mit folgender Zusammensetzung zugegeben:

9,8 g 2,5 - Diphenyloxazol (PPO)
0,2 g 2, 2' - p - phenylen - bis (5 - phenyloxazol) (POPOP)

100 g Naphtalin

auf 1000 ml Dioxan. (HAYES 1963)

Aus den im TPM angegebenen Meßwerten ließ sich nach unten genannter Formel die jeweilige Radioaktivität der Organe bestimmen.

$$(I.)\quad x = f_1 \times TPM\ (\ a + f_2 \times \text{Organgewicht}) \times \frac{\text{Organgewicht}}{\text{eingesetztes Gewicht}}$$

x: Gesamtradioaktivität pro Organ
a: zur Extraktion zugesetztes Äthanol in ml
f_1: (zur Messung eingesetztes Volumen in ml)$^{-1}$
f_2: Wassergehalt des Organs in Prozent

Weiterhin konnte bei Kenntnis des Organgewichts aus x die Radioakt. pro g Organ berechnet werden. Zur Berechnung der Gesamtmenge von ^{3}H-Ouabain im Plasma und in der Muskulatur wurden 3 % bzw. 40 % des Körpergewichts zugrunde gelegt.

Die Gesamtradioaktivität der zwischen den Meßperioden gesammelten Galle und des Sammelurins wurden folgendermaßen bestimmt:

(II.) $\text{TPM gesamt} = 20 \times \frac{\text{TPM gemessen}}{f_1}$

f_1: zur Messung eingesetztes Volumen in ml

Aus den Meßwerten der einzelnen Galleproben (TPM eff.) ließen sich die Ausscheidungsgeschwindigkeit (TPM/min) und die Konzentration (TPM/ml) von ^{3}H-Ouabain über die Versuchsdauer verfolgen.

(III.) $\text{TPM/min} = \frac{\text{TPM eff.}}{t}$

t: Dauer der Sammelperiode in Minuten

(IV.) $\text{TPM/ml} = \frac{\text{TPM eff.}}{f_3}$

f_3: gemessene Galleausscheidung in ml

Die Berechnung der Plasmakonzentration bei direkt zur Messung eingesetzten Plasmaproben erfolgte nach (IV.), wobei TPM/ml die Plasmakonzentration von ^{3}H-Ouabain, TPM eff. der Meßwert der Plasmaprobe und f_3 das eingesetzte Plasmavolumen in ml waren.

Gesamtblutkonzentration und Erythrozytenkonzentration von ^{3}H-Ouabain wurden wie folgt berechnet:

(V.) $\text{TPM/ml} = \frac{\text{TPM} \times (2 + f_3)}{f_1}$

f_3: Blut- bzw. Erythrozytenvolumen in ml

f_1: zur Messung eingesetzter Überstand in ml

Aus (V) und (IV) ließen sich zu jedem Zeitpunkt einer Messung der Erythrozyten-Plasma-Quotient und der Galle-Plasma-Quotient bestimmen.

Um die Meßwerte der einzelnen Ableitungsversuche vergleichend betrachten zu können, wurden sie mit einem Faktor f multipliziert. Dieser Faktor war der jeweilige Quotient aus einer einheitlichen Bezugsmenge (8×10^7 TPM) und aus der tatsächlich eingesetzten Menge:

$$f = \frac{8 \times 10^7 \text{ TPM}}{\text{TPM eingesetzt}}$$

4. Chromatographie

Einige Milliliter der Äthanol-Sammelgalle bzw. des Äthanol-Harn-Gemisches aus den Ableitungsversuchen nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain wurden im Wasserbad auf ein kleines Volumen eingeengt und zur Chromatographie verwandt. Der zur Untersuchung benutzte Harn war über eine achtstündige, die untersuchte Galle über jeweils eine o,5, 1, 2, 4 und achtstündige Versuchsdauer gesammelt worden. Von der Injektionslösung wurden einige Mikroliter direkt aufgetragen.

Das Auftragen erfolgte auf DC-Platten-SI, Fa. Riedel-De-Haen. Das Laufmittel bestand aus einem Gemisch Chloroform, Methanol und Wasser im Verhältnis 65 : 30 : 5 (FORTH 1968).

Nach erfolgter Auftrennung wurden die Chromatogramme durch einen Dünnschicht-Scanner II, Berthold LB 2722, gemessen. Aufgrund des Meßstreifens konnten die Platten in drei Bereiche eingeteilt werden: vor dem Gipfel (peak),
peak und
nach dem peak.

Jeder dieser Plattenbereiche wurde isoliert abgetragen und direkt unter Zusatz von 10 ml Szintillatorflüssigkeit und Thixotropic Gel Powder (Carb-o-sil) in den Flüssigkeitsszintillator (Packard) zur Messung eingesetzt.

IV. E R G E B N I S S E

A Elimination von ^{3}H-Ouabain durch die isoliert perfundierte Rattenleber

Durch die Versuche an der isoliert perfundierten Rattenleber sollten die Aufnahme von Ouabain in die Leber, die Ausscheidungsgeschwindigkeit über die Galle und die Gesamtausscheidung gemessen werden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob im Bereich von 0,75 γ bis 150 γ Ouabain pro 100 ml Perfusionsblut dosisabhängige Unterschiede erkennbar sind.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 1 in der Form dargestellt, daß die über die Versuchsdauer in den einzelnen Gallefraktionen nachgewiesene Ouabainmenge in der Rubrik "Galle" für die verschiedenen Ausgangsmengen kumulativ in Prozent der jeweiligen Gesamtdosis zur Darstellung kommt, Messungen der Blutkonzentration von Ouabain erfolgten durch Entnahme von Proben am posthepatischen Teil der Vena cava inferior. Aus der Ouabainmenge der jeweiligen Probe und ihrem Volumen wurde die Ouabainmenge des gesamten Perfusionssystems bestimmt. Diese erscheint in der Tabelle 1 in der Rubrik "Perfusat" in Prozent der jeweiligen Gesamtdosis. Aus der Differenz der Summe der Galle und Perfusatwerte zur Gesamtdosis ergab sich die jeweilige Menge an Ouabain in der Leber.

In der kumulativen Darstellung des in der Galle ausgeschiedenen Ouabains kommt es innerhalb der ersten 30 Minuten zu einem steilen Anstieg. So sind im Mittel nach 45 Minuten bereits 81,3 % der insgesamt über vier Stunden in der Galle ausgeschiedenen Ouabainmenge wiederzufinden. Demgegenüber sind aber im Perfusionsmedium nach 45 Minuten im Mittel nur noch 8,4 % der Anfangsdosis vorhanden, d. h. 91,6 % des Ouabains sind in die Leber aufgenommen worden und haben diese großteils bereits über die Galle verlassen.

Im Laufe der zweiten Versuchshälfte erscheinen im Mittel nur noch 3,9 % des insgesamt ausgeschiedenen Ouabains innerhalb von zwei Stunden in der Galle. In diesem Zeitraum wurden dagegen im Mittel nur noch 0,56 % der Gesamtdosis aus dem Perfusionsblut in die Leber aufgenommen.

Die Aufnahme von Ouabain in die Leber, die Ausscheidungsgeschwindigkeit über die Galle und die Gesamtausscheidung in der Galle lassen im Bereich von 0,75 γ bis 150 γ Ouabain pro 100 ml Perfusionsblut keine dosisabhängigen Unterschiede erkennen.

In Abbildung 2 erfolgt die graphische Darstellung eines der vier Perfusionsversuche, und zwar des Versuches III mit der eingesetzten Menge von 75 γ Ouabain.

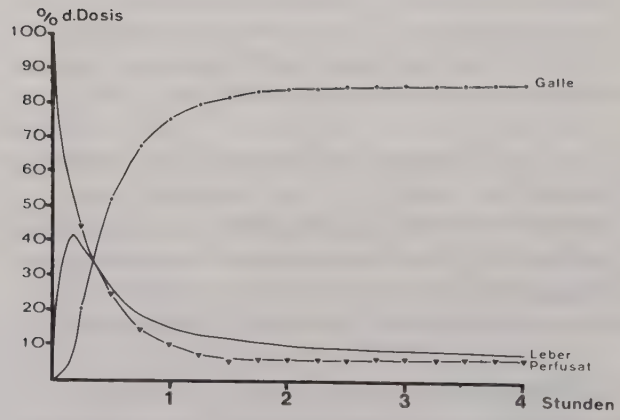

Abb. 2 Elimination von Ouabain bei der isoliert perfundierten Rattenleber über die Galle

(•—•); vorhandene Menge im Perfusionsblut

(▾—▾); daraus berechnete Menge in der Leber (——) jeweils in Prozent der Gesamtdosis

	GALLE				PERFUSAT				LEBER			
t/min.	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
15	32,0	15,95	20,58	35,95	10,8	34,91	42,32	13,06	57,2	49,14	37,1	50,99
30	58,55	42,38	51,8	68,64	9,87	11,99	22,0	6,5	31,58	45,63	26,2	24,86
45	70,22	58,3	67,59	77,7	6,17	8,53	14,18	4,72	23,61	33,17	18,23	17,58
60	75,48	64,18	75,49	80,32	6,02	7,47	9,96	4,18	18,5	28,35	14,55	15,5
75	78,76	66,98	79,35	81,45	5,32	7,58	7,54	3,52	15,92	25,44	13,11	15,03
90	81,09	68,74	81,54	82,13	-	5,96	5,51	3,52	-	25,3	12,95	14,35
105	83,0	70,2	82,84	82,63	5,73	6,74	5,9	2,98	11,27	23,06	11,26	14,39
120	84,54	71,45	83,67	83,06	6,03	5,91	6,52	2,81	9,43	22,64	9,81	14,13
135	85,62	72,44	84,25	83,36	5,73	5,85	6,64	2,68	8,65	21,71	9,11	13,96
150	86,51	73,22	84,66	83,60	4,43	5,85	5,79	2,39	9,06	20,93	9,55	14,01
165	87,46	73,94	84,96	83,79	4,93	5,18	6,64	2,68	7,61	20,88	8,4	13,53
180	88,33	74,47	85,13	83,95	6,84	5,35	6,52	2,33	4,83	20,18	8,35	13,72
195	88,99	74,92	85,24	84,1	6,4	5,18	6,3	-	4,61	19,9	8,46	-
210	89,49	75,32	85,32	84,23	6,76	5,52	6,52	2,33	3,75	19,16	8,16	13,44
225	89,82	75,71	85,36	84,33	5,27	5,02	6,3	2,15	4,91	19,27	8,34	13,52
240	90,0	75,99	85,41	84,42	4,78	5,52	6,35	2,39	5,22	18,49	8,24	13,19

Tabelle 1: Isoliert perfundierte Rattenleber

Versuch I: 0,75 γ Ouabain spez. Akt. 20 $CiXg^{-1}$

Versuch II: 30 γ Ouabain spez. Akt. 0,5 "

Versuch III: 75 γ Ouabain spez. Akt. 0,2 "

Versuch IV: 150 γ Ouabain spez. Akt. 0,1 "

Wiedergefundenes Ouabain umgerechnet in % der Dosis.

Perfusatwerte auf 100 ml Perfusionslösung bezogen.

Leberwerte aus Galle- und Perfusatwerten berechnet.

B Ableitungsversuche nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain

Bei fünf Ratten wurde der Verlauf der Gesamtradioaktivität im Plasma und in der Galle über zwölf Stunden beobachtet. Die eingesetzte Glykosiddosis lag dabei zwischen 0,0035 mg/kg und 0,0075 mg/kg. Um den Radioaktivitätsverlauf der einzelnen Versuche einheitlich darzustellen, wurden die eingesetzte Gesamtradioaktivität gleich 8×10^{7} TPM gesetzt und alle Meßwerte darauf bezogen.

Abbildung 3 zeigt den Verlauf der Gesamtradioaktivität im Plasma. Hier kommt es in den ersten Minuten zu einem steilen Abfall der Kurve der Plasmaaktivität in der semilogarithmischen Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit.

Die Halbwertzeit dieses als Penetrationsphase (RUIZ-TORRES 1970) bezeichneten Abschnittes betrug 2,6 Minuten. Hierbei wurde zur Berechnung der Kurvenverlauf von 0 bis 15 Minuten zugrunde gelegt.

Legt man für die Berechnung der zweiten Halbwertzeit den Kurvenverlauf ab der vierten Stunde zugrunde, so erhält man eine Halbwertzeit der Eliminationsphase von sechs Stunden und 43 Minuten.

In Abbildung 4 ist in halblogarithmischer Darstellung die biläre Exkretion von ^{3}H-Ouabain nach intravenöser Gabe über 12 Stunden dargestellt. Es erfolgt ein steiler Anstieg der Glykosidkonzentration innerhalb der ersten Minuten bis zu einem Konzentrationsmaximum 15 Minuten nach Versuchsbeginnn. Nach Überschreiten des Maximums fällt die bilare Konzentration zunächst exponentiell ab.

Die Halbwertzeit für diesen steilen Abfall vom Maximum der Kurve bis nach einer Stunde betragt 17,5 Minuten. Es erfolgt im weiteren Verlauf der Kurve eine exponentielle Näherung an eine zweite Halbwertzeit, die für den flachen Teil der Kurve ab der siebenten Stunde 6 Stunden 18 Minuten beträgt.

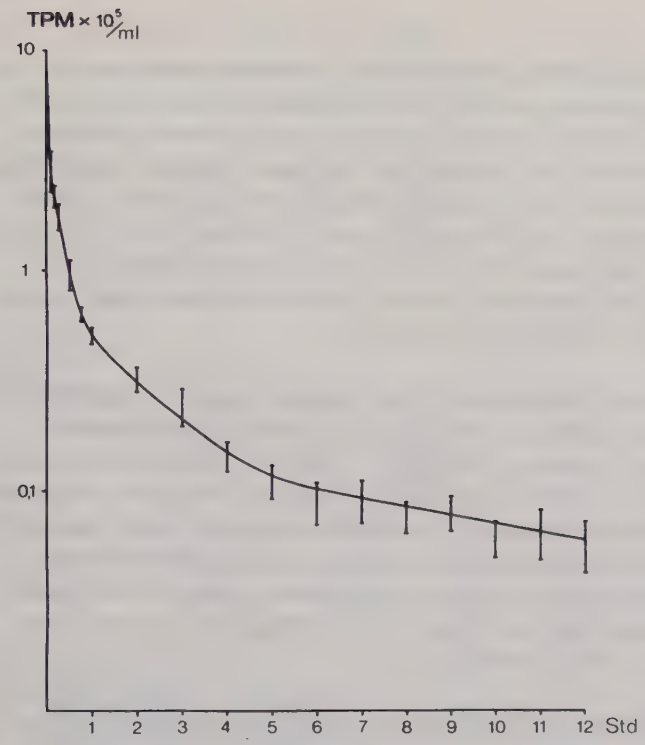

Abb. 3 Plasmakonzentration von ^{3}H-Ouabain in semilogarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit bei Ratten
Das Glykosid wurde intravenös appliziert, dabei wurde die Galle nach außen abgeleitet. Die Resultate sind als Mittelwerte ± Standardabweichungen angegeben, die Gesamtdosis betrug 8×10^{7} TPM (n = 5)
$t_{1/2}$ (0-15 min): 0,0436 h ≙ 2,6 min; k_2 = 15,9 h^{-1}
$t_{1/2}$ (4-12 h) : 6,7094 h ≙6 h 43 min; k_2= 0,1033 h^{-1}

Die Gesamtmenge Ouabain, die im Versuchszeitraum von zwölf Stunden über die Galle ausgeschieden wurde, belief sich auf 71,5 %($\pm$ 5,88 %). Im gleichen Zeitraum wurden über die Nieren 18,4 % ($\pm$ 1,6 %) der Dosis ausgeschieden. In der Leber fanden sich nach zwölf Stunden noch 1,16 % ($\pm$ 0,53 %) der Dosis und in der Muskulatur noch etwa 6,71 % ($\pm$ 1,05 %) der Gesamtmenge. Die in den übrigen Organen wiedergefundene Menge war gering. (Tabelle 2, Bilanz I)

Weiterhin wurden nach intravenöser Gabe von Ouabain und Galleableitung wie oben je zwei Ratten bereits nach 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden und 8 Stunden dekapitiert und aufgearbeitet. Zusätzlich wurde zwei Tieren drei Minuten nach der Injektion die Leber herausgenommen und untersucht. Die in diesem Versuchsteil wiedergefundenen Mengen an Ouabain sind für die Leber, die Galle und den Urin in Abbildung 5 in Prozent der Dosis wiedergegeben.

Dem zunächst steilen Anstieg der Leberkonzentration, es befinden sich nach drei Minuten 36,7 % der Dosis in der Leber, folgt ein zunächst steiler, dann geringer Abfall.

Dementsprechend kommt es auch zu einem schnellen Anstieg der in der Galle ausgeschiedenen Menge. So hat nach einer Stunde fast die Hälfte (44,5 % $\pm$ 5,7 %) der injizierten Substanz den Körper über die Galle wieder verlassen. (Tabelle 3)

BILANZ I (n = 5)

Galle	Urin	Herz	Hirn	Leber
71,50	18,4	0,024	0,01	1,16
5,88	1,6	0,006	0,004	0,53

Niere	Dickd.	Dünnd.	Muskel	Magen
0,32	0,05	0,33	6,71	0,06
0,08	0,009	0,04	1,05	0,02

BILANZ II (n = 8)

Galle und Verdauungstrakt	Urin	Herz	Hirn
68,91	21,2	0,02	0,017
2,51	1,89	0,005	0,003

Leber	Niere	Muskel
1,25	0,20	4,88
0,46	0,03	0,60

BILANZ III (n = 13)

Galle	Urin	Herz	Leber
8,44	0,98	0,005	0,22
0,877	0,15	0,001	0,07

Niere	Muskel	Verdauungstrakt
0,018	0,48	87,01
0,003	0,05	1,55

Tabelle 2: zu Bilanz I: wiedergefundenes Ouabain in Prozent der Dosis ($\bar{x}$ + SE) i. v. Applikation, Galle abgeleitet

zu Bilanz II: Angaben wie Bilanz I, i. v. Applikation, Galle intraduodenal rückgeleitet

zu Bilanz III: Angaben wie Bilanz I, intraduodenale Applikation, Galle abgeleitet

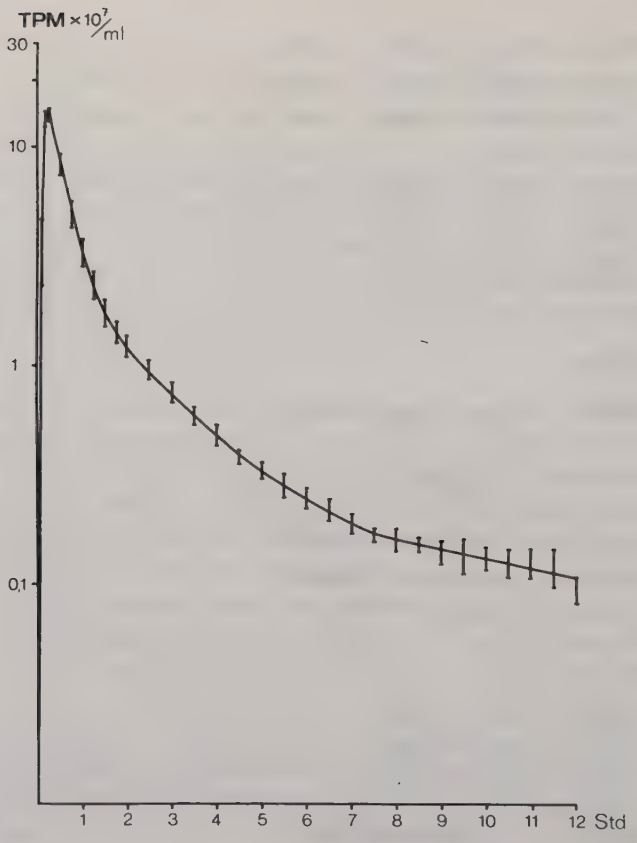

Abb. 4 Gallekonzentration von ^{3}H-Ouabain in semilogarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit bei der Ratte. Das Glykosid wurde intravenös appliziert. Die Resultate sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben, die Gesamtdosis betrug 8 x 10^{7} TPM (n = 5)
$t_{1/2}$ (15-60 min): 0,2919 h ≙ 17,5 min; k_2= 2,375 h^{-1}
$t_{1/2}$ (7-12 h): 6,2977 h ≙ 6 h 18 min; k_2= 0,1101 h^{-1}

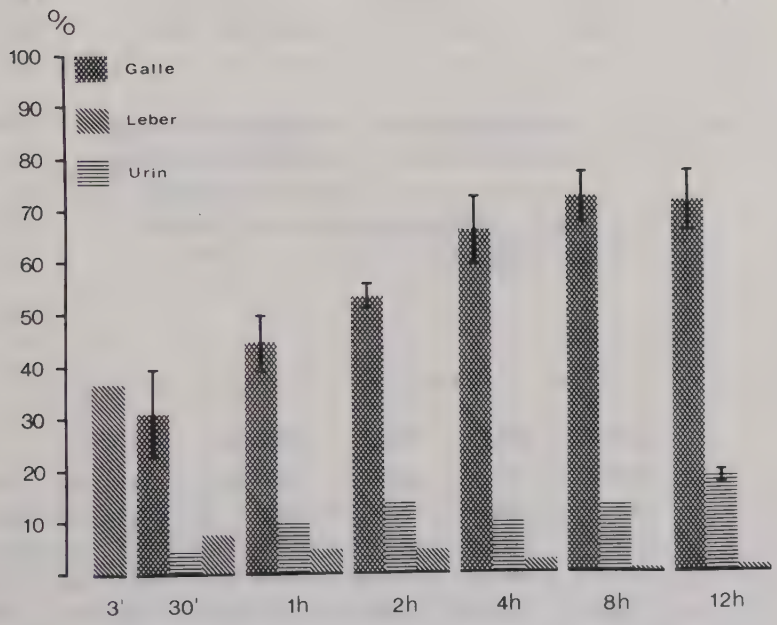

Abb. 5 Wiedergefundenes ^{3}H-Ouabain in der Leber, in der Galle und im Urin in Prozent der Dosis bei Ratten

	Leber	Galle	Urin
3 min	36,7 (2)	-	-
30 min	7,5 (2)	31,1 ± 8,9 (7)	4,2 (2)
1 h	4,7 (2)	44,5 ± 5,7 (7)	10,1 (2)
2 h	4,6 (2)	53,2 ± 2,6 (7)	14,4 (2)
4 h	2,5 (2)	66,1 ± 7,2 (7)	9,1 (2)
8 h	0,45 (2)	72,5 ± 5,0 (7)	12,7 (2)
12 h	1,16 ± 0,53 (5)	71,5 ± 5,9 (5)	18,4 ± 1,6 (5)

Tabelle 3: Wiedergefundenes ^{3}H-Ouabain in Leber, Galle und Urin in Prozent der Dosis als Mittelwert ± Standardabweichung. Zahl der Versuche jeweils dahinter in Klammern.

	Leber	Niere	Herz	Muskel	Hirn
30 min	992,6	545,2	509,0	94,7	7,6
1 h	568,4	296,6	284,7	74,7	5,6
2 h	575,0	183,9	153,7	95,9	8,2
4 h	358,2	162,7	245,3	46,9	-
8 h	69,4	192,6	38,2	21,5	-

Tabelle 4: Konzentration an ^{3}H-Ouabain (intravenös, Galle abgeleitet) als Mittel zweier Werte in TPM/g x 10^{3}.

Leber	Niere	Herz	Muskel
206 ± 107	202 ± 49	43 ± 7,4	67,1 ± 10,5
178 ± 66	131 ± 20	31,5 ± 5,2	48,8 ± 6,0
33,5 ± 9,5	11,4 ± 1,9	7,9 ± 3,1	4,8 ± 0,5

Hirn	Dickdarm	Dünndarm	Magen
7,2 ± 1,0	10,2 ± 2,1	44,5 ± 6,7	9,7 ± 3,2
8,4 ± 1,7			

Tabelle 5: Konzentration an ^{3}H-Ouabain nach 12 Stunden, intravenös, Galle abgeleitet, in TPM/g x 10^{3},
intravenös, Galle rückgeleitet und intraduodenal, Galle abgeleitet jeweils darunter

C Intravenöse Gabe von ^{3}H-Ouabain mit Gallerückleitung

Acht Versuchstieren wurde die abgeleitete Galle intraduodenal wieder zugeführt. In bestimmten Zeitabständen wurde lediglich für drei Minuten jeweils Galle zur Messung entnommen. Die Ergebnisse dieser Versuchsgruppe zeigen keinen nennenswerten Unterschied zu denen der vorangegangenen.

Sowohl der Plasmakonzentrationsverlauf, als auch die Gallekonzentration und die in den Organen wiedergefundenen Substanzmengen sind fast gleich. (Tabelle 2, Bilanz II; Abb. 6; Abb. 7; Tabelle 5)

Im Urin wurden innerhalb von 12 Stunden 21,2 % ± 1,9 % ausgeschieden.

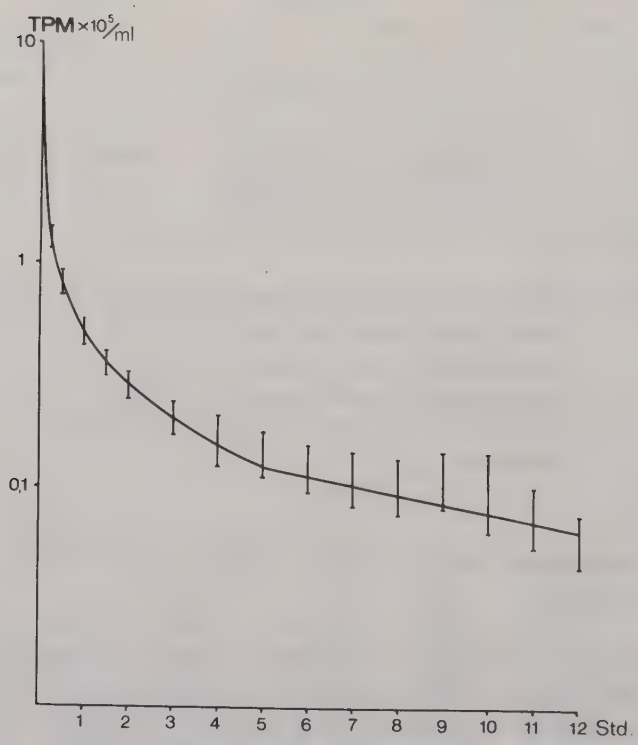

Abb. 6 Plasmakonzentration von ^{3}H-Ouabain in semilogarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit (intravenös, Galle rückgeleitet), Mittelwerte ± Standardabweichungen, (n = 8)

$t_{1/2}$ (0-15 min): 0,0374 h ≙ 2,3 min; k_2= 18,55 h^{-1}

$t_{1/2}$ (4-12 h) : 6,4683 h ≙ 6h 28min; k_2= 0,1072 h^{-1}

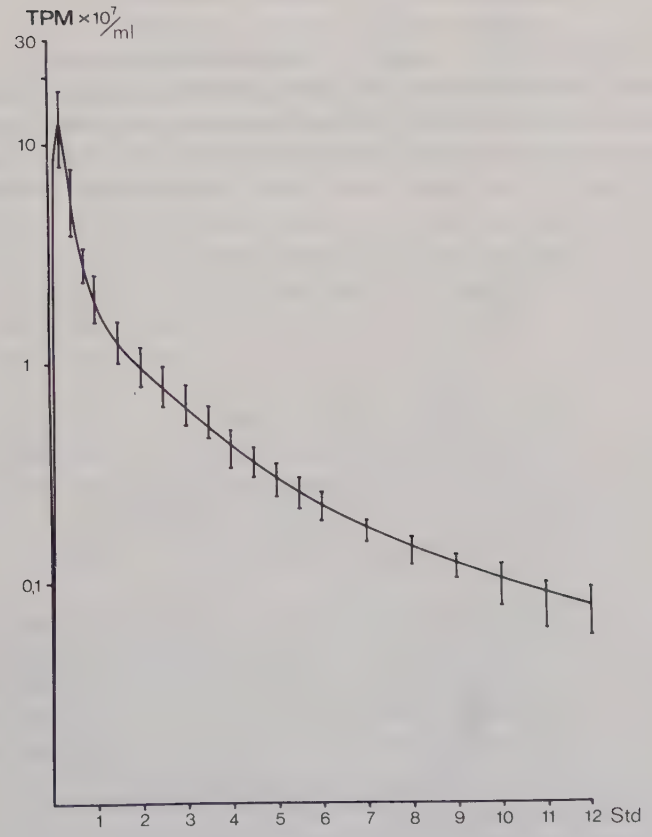

Abb. 7 Gallekonzentration von ^{3}H-Ouabain in semilogarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit (i. v., Galle rückgeleitet); Mittelwerte ± Standardabweichungen (n = 6)

D Intraduodenale Gabe von ^{3}H-Ouabain

Dreizehn Ratten wurde tritiummarkiertes Ouabain über einen Katheter im Ductus choledochus intraduodenal zugeführt. Die Ausscheidung über die Galle wurde zwölf Stunden gemessen, ebenso der Plasmaspiegel. Abbildung 8 gibt diese Verhältnisse wieder.

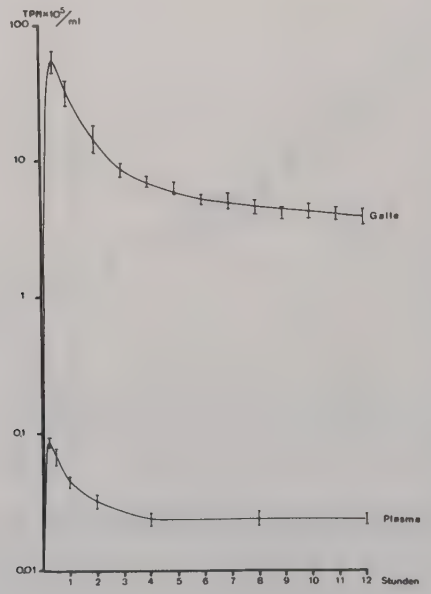

Abb. 8 Galle- und Plasmakonzentration von ^{3}H-Ouabain in semilogarithmischer Darstellung in Abhängigkeit von der Zeit. Intraduodenale Gabe, Galle abgeleitet. Mittelwerte ± Standardabweichungen (n = 13).

Nach intraduodenaler Zuführung des Glykosids kommt es sowohl zu einem steilen Anstieg der Konzentration des Glykosids im Plasma, als auch in der Galle. Die Plasmakonzentration hat ihr Maximum bei etwa 15 Minuten, die Gallekonzentration bei etwa 30 Minuten.

Der Galle-Plasma-Quotient (G/P) als Ausdruck des Verhältnisses der Glykosidkonzentrationen in der Galle zu denen im Plasma zum jeweils selben Zeitpunkt beträgt zwischen der 30. und 60. Minute über 500 (Abbildung 9).

Die Gallekonzentrationskurve fällt nach dem Maximum zunächst steil, dann flacher ab und nähert sich nach der vierten Stunde einem geradlinigen Verlauf, der einer Halbwertzeit von 7 Stunden 25 Minuten entspricht ($t_{1/2}$ = 7,421 h, k_2= 0,0934 h^{-1}).

Die Plasmakonzentrationskurve fällt nach dem Maximum ebenso zunächst steil ab. Der Kurvenverlauf flacht jedoch hier sehr schnell ab, so daß nach vier Stunden kein weiterer Abfall mehr gemessen werden kann, d. h. die Plasmakonzentration ist ab der vierten Stunde konstant.

Jeweils zwei Tiere wurden nach 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden, 4 Stunden und 8 Stunden nach gleicher Vorbereitung wie oben getötet und untersucht. Soweit keine Standardabweichungen angegeben sind, handelt es sich um den Mittelwert dieser zwei Tiere. Bei Galle und Plasma wurden die dreizehn Tiere aus der obigen Versuchsgruppe hinzugerechnet.

	Leber	Herz	Niere	Muskel	(Galle)	(Plasma)
30 min	191,6	14,1	30,6	1,45	5393 ± 1096	6,7 ± 1,0
60 min	72,9	8,6	25,2	1,9	3160 ± 636	4,3 ± 0,5
2 h	84,4	6,3	34,1	1,2	1457 ± 331	3,2 ± 0,4
4 h	67,3	-	17,8	2,04	695 ± 70	2,3 ± 0,3
8 h	22,3	-	7,8	1,5	456 ± 55	2,4 ± 0,3

Tabelle 6: Konzentrationen des Glykosids in TPM/g x 10^3 (TPM/ml x 10^3) intraduodenal, Galle abgeleitet

	Urin (n)	Galle (n)
30 min	- (2)	0,98 ± 0,95 (15)
1 h	0,1 (2)	2,3 ± 2,3 (15)
2 h	0,1 (2)	3,88 ± 2,7 (15)
4 h	0,18 (2)	4,84 ± 2,9 (15)
8 h	0,55 (2)	6,94 ± 2,9 (15)

Tabelle 7: Eliminierte Gesamtmenge in Galle und Urin in Prozent der Dosis (intraduodenal, Galle abgeleitet)

Betrachtet man die außerhalb des Darmes wiedergefundene Aktivität als Maß für die enterale Resorption, so sind im Mittel 10,1 % der intraduodenal applizierten Dosis nach 12 Stunden resorbiert worden. Die stärksten Schwankungen in der Resorption scheinen innerhalb der ersten zwei Stunden zu bestehen, während sie mit zunehmender Versuchsdauer immer geringer werden.

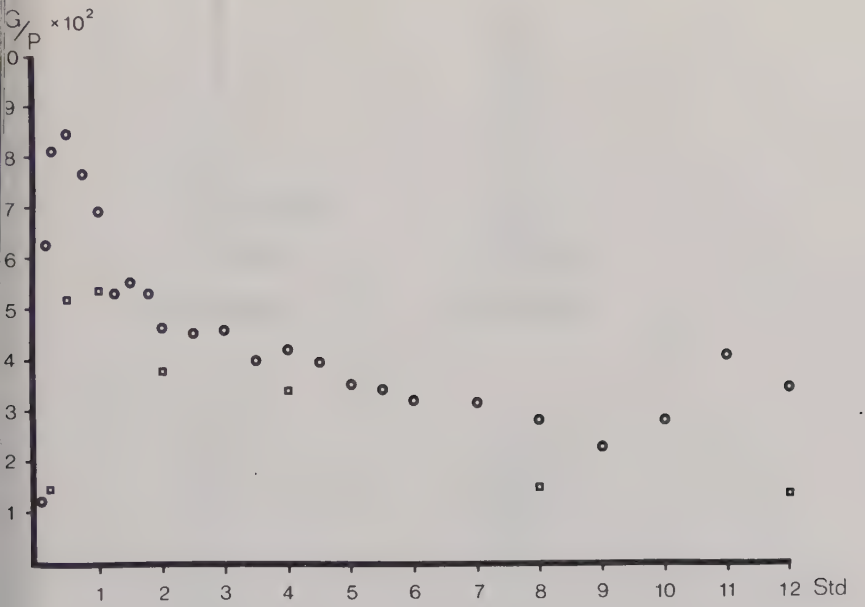

Abb. 9 Galle-Plasma-Quotient in Abhängigkeit von der Zeit
(O) : intravenöse Gabe, Galle abgeleitet
(□) : intraduodenale Gabe, Galle abgeleitet

E Chromatographie

Sammelgalle verschiedener Versuche und Urin wurden dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und anschließend mit einem Scanner gemessen. Es zeigte sich, daß die gemessenen peaks, die quantitative Verteilung und der R_f-Wert denen der Originalsubstanz entsprachen. Es erfolgt somit bei der Ratte unter den gegebenen Bedingungen keine Metabolisierung des Ouabains (Abbildung 10, Abbildung 11)

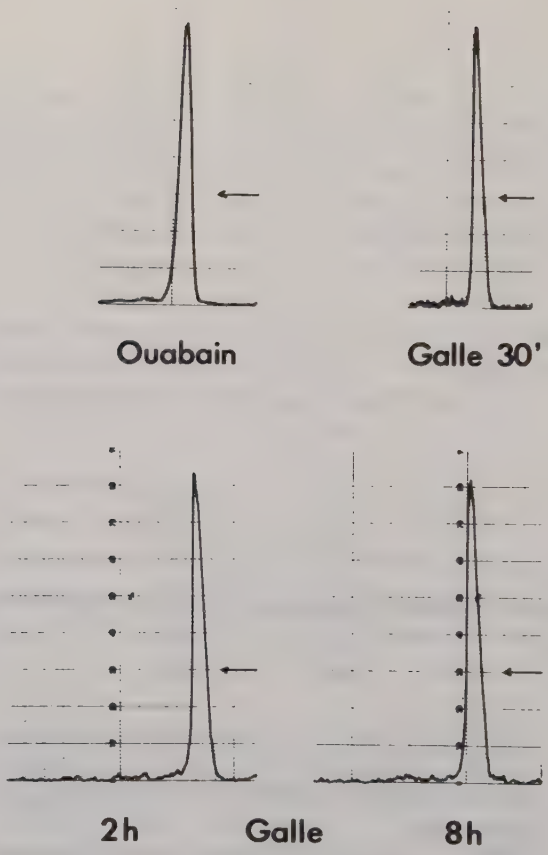

Abb. 10 ^{3}H-Ouabain in der Galle
Dünnschichtchromatographische Auftrennung der gesammelten Rattengalle nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain. Dauer der Sammelperioden 30 Minuten, 2 Stunden und 8 Stunden. Zum Vergleich links oben Originalsubstanz (^{3}H-Ouabain)

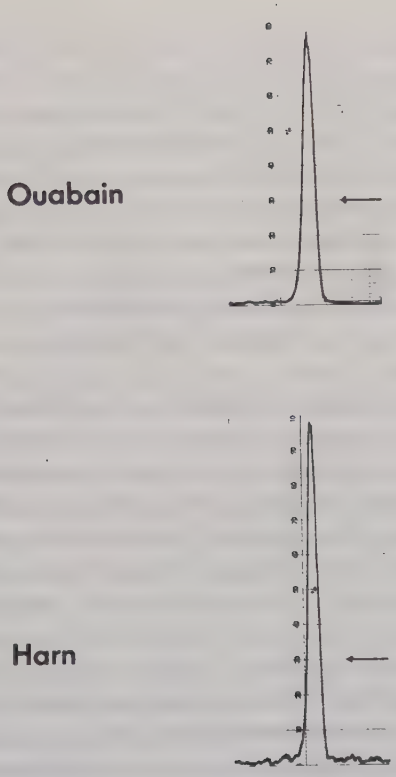

Abb. 11 ^{3}H-Ouabain im Harn
Dünnschichtchromatographische Auftrennung des gesammelten Harns der Ratte acht Stunden nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain. Zum Vergleich Oben Originalsubstanz (^{3}H-Ouabain)

V. D I S K U S S I O N

Bereits HATCHER und EGGLESTON (1919) wiesen darauf hin, daß die Leber bei der Elimination von Ouabain bei der Ratte eine wichtige Rolle spielt. Die Leber als Hauptausscheidungsorgan von Ouabain bei der Ratte beschrieben später mehrere Autoren wie FARAH (1946), COX, ROXBURGH und WRIGHT (1959), DUTTA, MARKS und SMITH (1963), KUPFERBERG und SCHANKER (1968) sowie RUSSELL und KLAASSEN (1973).

Nur wenige Untersucher beschreiben das Verhalten der isoliert perfundierten Leber nach Gabe von Ouabain, sowie eine mögliche Konzentrationsabhängigkeit. So fanden KOLENDA, LÜLLMANN und PETERS (1971) an der isoliert perfundierten Meerschweinchenleber zwar eine Aufnahme von Ouabain in die Leber (40 % der Dosis), jedoch keine biläre Exkretion. Als Erklärung der fehlenden Exkretion via Galle wurde angenommen, daß das hydrophile Glykosid Ouabain nicht in die metabolisch aktiven Kompartimente der Leber penetrieren könne. Dies muß nach dieser Erklärung jedoch für die isoliert perfundierte Rattenleber angenommen werden. Hier kommt es nämlich anfangs auch zu einer Anreicherung von Ouabain in der Leber, dann jedoch bald zur bilären Exkretion. Verteilung und Ausscheidung sind in dem untersuchten Bereich unabhängig von der applizierten Dosis.

KUPFERBERG und SCHANKER (1968) konnten an der Ratte nach intravenöser Gabe von Ouabain zeigen, daß die Exkretion in die Galle gegen einen Konzentrationsgradienten verläuft. In dem von ihnen untersuchten Zeitraum bis zu 90 Minuten post injectionem fanden

sie Galle/Plasma-Quotienten von 147 - 557. Untersuchungen von DAMM, BRAUN und HECKERT an der Maus nach intraperitonealer Injektion von Ouabain zeigten eine Anreicherung von Ouabain in der Galle bis zum 200fachen der Plasmakonzentration. Nur bei diesen beiden Spezies wurde bislang die biläre Sekretion als Hauptelimination sweg von Ouabain experimentell gesichert, im Gegensatz zu anderen Spezies wie Mensch, Katze, Meerschweinchen und Hund, bei denen die renale Ausscheidung im Vordergrund steht. In der hier vorgelegten Arbeit wird aufgrund der kontinuierlichen Darstellung der Konzentration von Ouabain in der Galle und im Plasma, sowohl nach intravenöser,als auch nach intraduodenaler Gabe, über den Zeitraum von jeweils zwölf Stunden eine zeitliche Abhängigkeit des Galle/Plasma-Quotienten ersichtlich. Hierbei ergaben sich zu vergleichbaren Zeitpunkten gegenüber den Untersuchungen von KUPFERBERG und SCHANKER höhere Galle/Plasma-Quotienten bis über 800.

Der anfangs starken Anreicherung von Ouabain in der Leber folgt ein steiler Anstieg der Ouabainkonzentration in der Galle bis zu einem Maximum nach fünfzehn Minuten, danach folgt ein exponentieller Abfall mit einer Halbwertzeit von etwa 17 Minuten. KUPFERBERG und SCHANKER (1968) fanden bei der gleichen Halbwertzeit das Maximum bei ca. zwölf Minuten. In der späten Phase des exponentiellen Abfalls der Ouabainkonzentration in der Galle beträgt die Halbwertzeit etwa sechs Stunden.

Vergleicht man den Abfall der Ouabainkonzentration im Plasma nach einmaliger intravenöser Gabe bei verschiedenen Spezies miteinander, so zeigt sich, daß bei der Ratte, bei der der Haupteliminationsweg die Galle ist, in der späten Phase des exponentiellen Abfalls kürzere Halbwertzeiten auftreten als bei jenen Spezies, bei denen die Ouabainelimination hauptsächlich über die Nieren geschieht. Beim Menschen wurden Plasmahalbwertzeiten von 5,5 Stunden (MARKS, DUTTA, GAUTHIER, ELLIOT; 1964), 21 Stunden (SELDEN, SMITH; 1972) und 50 Stunden (LAHRTZ, REINHOLD, van ZWIETEN; 1969) beschrieben, beim Hund von 18 Stunden (SELDEN, SMITH; 1972).

Die enterale Resorption und damit die orale Wirksamkeit von Ouabain ist seit längerer Zeit ein Gebiet unterschiedlichster Untersuchungsergebnisse und Meinungen. Frühe tierexperimentelle Untersuchungen von HATCHER (1919), NYARA (1932), SVEC (1937) und REINERT (1952) zeigten übereinstimmend starke Schwankungen der enteralen Resorption innerhalb der einzelnen Versuchstierreihen. Spätere Untersuchungen von FORTH et al. (1969), MARZO et al. (1969) und MARCHETTI et al. (1971) erbrachten sowohl beim Tierexperiment, als auch beim Mensch nach oraler Gabe Resorptionsraten von 7 - 10 %. In Vorversuchen stellten FORTH et al. (1968) dabei fest, daß der Durchtritt des Glykosids im oberen Jejunum etwa doppelt so groß ist wie im terminalen Ileum, was etwa dem Verhältnis der Größe der Oberfläche beider Darmabschnitte entspricht. In der hier vorgelegten Untersuchung wurde ebenfalls eine erhebliche Streuung der Resorption, jedoch vornehmlich in den ersten zwei Stunden nach intraduodenaler Gabe, beobachtet.

Mit zunehmender Versuchsdauer und damit gleichmäßigerer Verteilung über größere Darmabschnitte wurden die Schwankungen geringer. Da nach Untersuchungen von MARZO et al. (1970) eine lineare Korrelation zwischen der oral verabreichten Dosis und der im Gastrointestinaltrakt resorbierten besteht, erscheinen die Schwankungen bei der enteralen Resorption von Ouabain im wesentlichen methodischen Ursprungs zu sein.

VI. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Problemstellung dieser Arbeit umfaßte die Untersuchung der Elimination von Ouabain an der isoliert perfundierten Rattenleber in verschiedenen Konzentrationsbereichen, sowie die Untersuchung der Elimination und Verteilung von Ouabain bei der Ratte nach intravenöser und intraduodenaler Applikation.

In der ersten Versuchsgruppe konnte gezeigt werden, daß in linearer Abhängigkeit von der in diesen Versuchen applizierten Dosis (0,75 γ bis 150 γ Ouabain pro 100 ml Perfusionsblut) von der isoliert perfundierten Rattenleber Ouabain sehr schnell aus der sie durchströmenden Perfusionslösung aufgenommen und über die Galle eliminiert wird.

Nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain kommt es bei der Ratte zu einem steilen Abfall der Plasmakonzentration von Ouabain und zu einem steilen Anstieg der Gallekonzentration. Diese fällt nach einem Maximum nach 15 Minuten zunächst exponentiell ab. Für den Verlauf der Gallekonzentration von ^{3}H-Ouabain nach intravenöser Gabe läßt sich für den steilen Abfall nach dem Maximum und den langsamen Abfall nach etwa sieben Stunden je eine Halbwertzeit bestimmen ($t_{1/2}$ (0-5 min: 2,6 min; $t_{1/2}$(4-12 h): 4h 43 min).

Intraduodenale Rückleitung der abgeleiteten Galle führt nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain zu keiner signifikanten Veränderung der Verlaufskurven von ^{3}H-Ouabain im Plasma oder in der Galle sowie bei der Organverteilung.

Intraduodenale Gabe von ^{3}H-Ouabain führt zu einem steilen Anstieg der Plasmakonzentration der resorbierten Substanz bis zu einem Maximum nach 15 Minuten, danach erfolgt ein Abfall der Plasmakonzentration. Nach etwa vier Stunden stellt sich eine Plasmakonzentration von Ouabain ein, die bis zum Versuchsende nach zwölf Stunden konstant bleibt.

Die Gallekonzentration von ^{3}H-Ouabain nach intraduodenaler Gabe zeigt einen steilen Anstieg mit einem Maximum bei 30 Minuten, danach erfolgt ein Abfall, dem nach der vierten Stunde eine Halbwertzeit von sieben Stunden 25 Minuten entspricht.

10,1 % der intraduodenal applizierten Dosis von ^{3}H-Ouabain konnten bei der Ratte im Mittel nach zwölf Stunden außerhalb des Darmes nachgewiesen werden.

VII. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALLEN, J. C. u.
SCHWARTZ, A.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 168, 42 (1969): A possible biochemical explanation for the insensitivity of the rat to cardiac glycosides.

ARONSON, R. S.,
GELLES, J. M. u.
HOFFMAN, B. F.: Nat. New Biol. 245, 118 (1973): Effect of ouabain on the current underlying spontaneous diastolic depolarisation in cardiac Purkinje fibres.

ASHLEY, J. J.,
BROWN, B. T.,
OKITA, G. T. u.
WRIGHT, S. E.: J. Biol. Chem. 232, 315 (1958): The metabolites of cardiac glycosides in human urine.

BRASS, H.: Dtsch. med. Wschr. 95, 754 (1970 Zur Therapie mit Herzglykosiden bei Patienten mit Niereninsuffizienz.

BULL, R. J. u.
CUMMINS, J. T.: J. Neurochem. 21, 923 (1973): Influence of potassium on the steady-state redox potential of the electron transport chain in slices of rat cerebral cortex and the effect of ouabain.

BODE, H. u.
GREEFF, K.: Arch. exp. Path. Pharmak. 227, 436 (1956): Über die Wirkung des Strophantins auf die renale Kalium- und Natriumausscheidung bei Ratten.

COX, E.,
ROXBURGH, G. u.
WRIGHT, S. E.: J. Pharm. Pharmacol. 11, 535 (19 The metabolism of ouabain in the rat.

COX, E. u.
WRIGHT, S. E.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 126, 117 (1959): The hepatic excretion of digital glycosides and their genins in the rat.

DETWEILER, D. K.: Fed. Proc. 26, 1119 (1967): Comparative pharmacology of cardiac glycosides.

AMM, K. H., RAUN, W. u. ECKERT, H.: Arch. exp. Path. Pharmak. 277, 267 (1973): Die Wirkung von Probenecid auf die Verteilung von Digitoxin, Digoxin und Ouabain an der Maus.

OST, F. H.: Pharmacologia Clinica 2, 173 (1970): Eine Prozedur zur fortlaufenden Messung von Absorptionsquoten nach dem Prinzip der korrespondierenden Flächen.

OST, F. H.: Dtsch. med. Wschr. 34, 1713 (1970): Transfer und Transit als pharmakokinetische Mengenbeziehung in einem Multikompartiment-Modell.

UTTA, S., MITH, C. R. u. ARKS, B. H.: Fed. Proc. 21, 126 (1962): Distribution of tritiated ouabain in the rats, sheep and human.

UTTA, S., ARKS, B. H. u. MITH, C. R.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 142, 223 (1963): Distribution and excretion of ouabain ^{3}H and dihydroouabain ^{3}H in rats and sheep.

NGLER, R., OLTZ, P. u. AUDONAT, H. W.: Arch. exp. Path. Pharmak. 233, 393 (1958): Über die Spaltung herzwirksamer Glykoside im Tierkörper.

ARAH, A.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 86, 248 (1946): On the elimination of g-strophantin by the rat.

ISHER, R. B. u. ARSONS, D. S.: J. Physiol. 110, 36 (1949): A preparation of surviving rat small intestine for the study of absorption.

ORTH, W., UKURAWA, E. u. UMMEL, W.: Arch. exp. Path. Pharmak. 262, 53 (1969): Intestinale Resorption von Herzglykosiden in vitro und in vivo.

HIRARDI, P. u. ARZO, A.: Arzneimittelforschung 11, 23 (1973): Plasma levels and urinary excretion of k-strophanthoside (^{3}H) administered rectally to human subjects.

GILLISSEN, J., HOTOVY, R. u. LIGNER, K.: Arzneimittelforschung 14, 228 (1968): Resorption und Abbau herzwirksamer Glykoside.

HATCHER, R. A. u. BRODIE, J. G.: Am. J. Pharmac. 82, 360 (1910)

HATCHER, R. A. u. EGGLESTON, C.: J. Pharmacol. 12, 405 (1919)

HERRMANN, I. u. REPKE, K.: Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 19 (1964): Entgiftungsgeschwindigkeit und Kumulation von Digitoxin bei verschiedenen Spezies.

HOFFMANN, H.: Zschr. für Versuchstierkunde 9, 1 (1967): Biologische Normalwerte bei Wistar-Ratten (Jena) verschiedenen Alters.

HOHORST, H. J., KREUTZ, F. H. u. BÜCHER, T.: Biochem. Z. 332, 18 (1959)

IISALO, E., DAHL, M. u. SUNDQUIST, H.: Int. J. Clin. Pharmacol. 7, 219 (1973): Serum digoxin in adults and children.

JANKU, I. u. KREBS, V.: Europ. J. Pharmak. 14, 286 (1971) Calculation of kinetic constants for an open two-compartmental model from drug excretion data.

JELLIFFE, R. W.: Math. Biosciences 1, 305 (1967): A mathematical analysis of digitalis kinetics in patients with normal and reduced renal function

KOBINGER, W., WENZEL, B. u. KLUPP, H.: Arzneimittelforschung 20, 1862 (1970): Beziehungen zwischen Herzwirkung, toxischer Wirkung und Plasmabindung bei Herzglykosiden.

KOEPPE, P.: Pharmacologia Clinica 2, 203 (197 Effective serum concentration and action in pharmacokinetics.

KOLENDA, K.-D., LÜLLMANN, H. u. PETERS, T.: British J. Pharmac. 4, 661 (1971) Metabolism of cardiac glycosides studied in the isolated perfused guinea-pig liver.

KRAMER, P., HORENKAMP, J., WILLMS, B. u. SCHELER, F.: Dtsch. med. Wschr. 95, 444 (1970): Das Kumulationsverhalten verschiedener Herzglykoside bei Anurie.

KRAUSE, D.: Arzneimittelforschung 5, 428 (1955): Förderung und Sicherung der enteralen Resorption von g-Strophanthin durch Natriumlaurylsulfat.

KREBS, A. H.: Stoffwechsel der isoliert perfundierten Leber, Hrsg. W. Stain u. R. Scholz. Springer-Verlag Berlin 1968

KUPFERBERG, H. J. u. SCHANKER, L. S.: Americ. J. of Physiology 214, 1048 (1968): Bilary secretion of ouabain-^{3}H and its uptake by liver slices in the rat.

KUSCHINSKY, K.: Arch exp. Path. Pharmak. 259, 394 (1968): Bestimmung der Eiweißbindung verschiedener Herzglykoside mittels Sephadex-Gelfiltration.

KUSCHINSKY, K., LÜLLMANN, H. u. VAN ZWIETEN, P. A.: Br. J. Pharmac. Chemother. 32, 598 (1968): A comparison of the accumulation and release of ^{3}H-ouabain and ^{3}H-digitoxin by guinea-pig heart muscle.

LAGE, G. L. u. SPRATT, J. L.: J. Pharmac. exp. Therapeutics 159, 182 (1968): Species and sex variation in the hepatic metabolism of ^{3}H-digoxin in vitro.

LAHRTZ, H., REINHOLD, H. M. u. VAN ZWIETEN, P. A.: Pharmacologia Clinica 2, 144 (1969): Serum concentration and urinary excretion of ^{3}H-ouabain in patients suffering from liver or kidney diseases.

LAHRTZ, H. u. VAN ZWIETEN, P. A.: Arch. exp. Path. Pharmak. 260, 165 (1968): Der Einfluß von Leber- und Nierenerkrankungen auf den Serumspiegel und die Urinausscheidung von ^{3}H-g-Strophanthin.

LAHRTZ, H., SATTLER, R. W. u. VAN ZWIETEN, P. A.:	Zeitschr. f. d. ges. experim. Me 148, 210 (1968): Über den Blutspiegel und die Ausscheidung radioaktiv markierter Herzglykosid nach deren intraduodenaler Appli kation bei der Katze.
LAUTERBACH, F.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 391 (1964): Enterale Resorption, biläre Ausscheidung und enterohepatischer Kreislauf von Herzglykosiden bei der Ratte.
LAUTERBACH, F. u. REPKE, K.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 240, 45 (1960): Über die Verteilung herzglykosidspaltender Fermente im tierischen Organismus.
LAUTERBACH, F.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 250, 232 (1965 a): Einfluß von Herzglykosiden auf die enterale Resorption.
LAUTERBACH, F.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 245, 67 (1963): Über Mechanismus und Umfang der enteralen Resorption und den entero-hepatischen Kreislauf von Herzglykosiden.
LAUTERBACH, F.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 257, 432 (1967): Über Unterschiede im Mechanismus der enteralen Resorption kardiotoner Steroide und an derer Pharmaka.
LAUTERBACH, F. u. VOGEL, G.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 259, 248 (1968): Die Abhängigkeit der enteralen Wirkungsquote kardiotoner Steroide von der angebotenen Dosis.
LAUTERBACH, F.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 263, 26 (1969): Metabolismus und enterale Resorption herzwirksamer Glykoside.
LÜLLMANN, H., PETERS, T. u. SEILER, K.-U.:	Dtsch. med. Wschr. 96, 1018 (197 Über die Verteilung und Biotransformation verschiedener Herzglykoside.

MARKS, B. H., DUTTA, S., GAUTHIER, J. u. ELLIOT, D.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 145, 351 (1964): Distribution in plasma, uptake by the heart and excretion of ouabain-^{3}H in human subjects.

MARZO, A., MERLO, L., NOSEDA, V. u. MARCHETTI, G. V.: Experientia 26/12, 1338 (1970): A linear correlation between the amount of ^{3}H-ouabain administered orally and that absorbed by the gastrointestinal tract in guinea-pigs.

MEIJER, D. K. F., ARENDS, J. W. u. WEITERING, J. G.: Europ. J. of Pharmacology 15, 245 (1971): The cardiac glycoside sensitive step in the hepatic transport of the bisquarternary ammonium compound hexafluorenium.

MORTAIS, R.: J. Physiol. 233, 395 (1973): Sodium morements in high-sodium beef red cells: properties of a ouabain insensitive exchange diffusion.

NOACK, E.: Med. Klinik 66, 583 (1971): Pharmakologie der herzwirksamen Glykoside.

V. NYARY : Arch. exp. Path. Pharmak. 165, 432 (1932)

OKITA, G. T., TALSO, P. J., CURRY, J. H., SMITH, F. D. u. GELLING, E. M. K.: J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 115, 371 (1955): Metabolic rate of radioactive digitoxin in human subjects.

OKITA, G. T.: Fed. Proc. 26, 1125 (1967): Species differences in duration of action of cardiac glycosides.

PISCITELLO, F. u. MAGGI, G. C.: Arzneimittelforschung 23/11, 1546 (1973): Effectiveness of orally administered g-strophanthin on haemodynamics in cardiac patients.

REINERT, H.: Arch. exp. Path. Pharmak. 215, 1 (1952): Die enterale Resorption des g-Strophanthins, k-Strophanthols-γ und Digitoxins bei der Katze.

REPKE, K.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 233, 271 (1958): Verteilung, Ausscheidung und Stoffwechsel von Digitoxin bei der Ratte.
REPKE, K.:	Arch. exp. Path. Pharmak. 233, 261 (1958): Die chemische Bestimmung von Digitoxin in Geweben und Ausscheidungen.
REPKE, K., EST, M. u. PORTIUS, H. J.:	Biochem. Pharmacol. 14, 1785 (1965) Über die Ursache der Speciesunterschiede in der Digitalisempfindlichkeit.
ROBERTS, R. J., KLAASSEN, C. D. u. PLAA, G. L.:	Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125, 313 (1967): Maximum bilary excretion of bilirubin and sulfobromophthalein during anaesthesia - indured alteration of rectal temperature.
ROSEN, M. R.:	Circulation 47, (1973): Mechanisms of digitalis toxicity. Effects of ouabain on phase four of canine Purkinje fiber transmembrane potential.
RUIZ-TORRES, A.:	Klinische Wochenschrift 48/5, 257 (1970): Kinetik der Herzsteroide im Organismus des Menschen und der Versuchstiere.
RUSSEL, J. Q. u. KLAASSEN, C. D.:	J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 183, 513 (1972): Species variation in the bilary excretion of ouabain.
RUSSELL, J. Q. u. KLAASSEN, C. D.:	J. of Pharmac. and exp. Therapeutics 186, 455 (1973): Bilary excretion of cardiac glycosides.
SCHELER, W.:	Grundlagen der allgemeinen Pharmakologie, VEB Gustav Fischer Verlag Jena 1969
SCHOLTAN, W., SCHLOSSMANN, K. u. ROSENKRANZ, H.:	Arzneimittelforschung 16, 109 (196 Bestimmung der Eiweißbindung von Digitalis-Präparaten mittels der Ultrazentrifuge.

SELDEN, R., MARGOLIES, M. M. u. SMITH, T. W.: J. of. Pharmac. and exp. Therapeutics 188, 615 (1974): Renal and gastrointestinal excretion of ouabain in dog and man.

SMALL, D. M., DOWLING, R. D. u. REDINGER, R. N.: Arch. Intern. Med. 130, 552 (1972): The enterohepatic circulation of bile salts.

SMITH, T. W.: The Journal of Clinical Investigation 51, 1583 (1972): Ouabain specific antibodies: Immunochemical properties and reversal of Na^+, K^+-activated adenosine triphosphatase inhibition.

SVEC u. HASIK : Arch. exp. Path. Pharmak. 185, 57 (1937): Zerstörbarkeit der Digitalissubstanzen im Magensaft.

THER, L.: Grundlagen der experimentellen Arzneimittelforschung, Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1965

VIANA, A. P.: Arch. int. Pharmacodyn. 203, 130 (1973): Respiratory effects of digoxin and ouabain in the dog.

VOGEL, G. u. BAUMANN, I.: Arzneimittelforschung 19, 657 (1969): Untersuchungen zur Frage des "wahren" Wirkwertes kardiotoner Steroide - die Bestimmung des molaren Optimaltiters an Katzen.

WILSON, T. H. u. WISEMAN, G.: J. Physiol. 123, 116 (1957): The use of sacs of everted small intestine for the study of transferrence of substances from the mucosal to the serosal surface.

VAN ZWIETEN, P. A.: Dtsch. med. Wschr. 92, 1684 (1967): Über die Gewebsverteilung, den Metabolismus und die Ausscheidung von Herzglykosiden.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Problemstellung	5
III.	Methodik	7
	A Versuchstiere und Substanzen	7
	B Isoliert perfundierte Rattenleber	7
	C Ableitungsversuche	11
	1) Intravenöse Gabe	12
	2) Intravenöse Gabe mit Gallerückleitung	13
	3) Intraduodenale Gabe	13
	D Analytische Methoden	14
	1) Vorversuche zur Extraktion von ^{3}H-Ouabain	14
	2) Bestimmung von ^{3}H-Ouabain	15
	a) In der Galle	15
	b) Im Urin	15
	c) Im Plasma	15
	d) Im Gesamtblut	16
	e) In den Erythrozyten	16
	f) In den Organen	16
	3) Messung der Radioaktivität von ^{3}H-Ouabain	17
	4) Chromatographie	19

Seite

IV. Ergebnisse 20

A Elimination von ^{3}H-Ouabain durch die isoliert perfundierte Rattenleber 20

B Ableitungsversuche nach intravenöser Gabe von ^{3}H-Ouabain 24

C Intravenöse Gabe von ^{3}H-Ouabain mit Gallerückleitung 31

D Intraduodenale Gabe von ^{3}H-Ouabain 34

E Chromatographie 37

V. Diskussion 40

VI. Zusammenfassung 44

VII. Literaturverzeichnis I-VIII

L E B E N S L A U F

Am 4. 6. 1946 wurde ich als Sohn des Arztes Heinz Böhme und seiner Ehefrau Charlotte in Dresden geboren.

In Berlin besuchte ich seit dem Februar 1952 die Grundschule, später eine OWZ, neusprachlicher Zweig. Im Rahmen eines Schüleraustauschprogramms verbrachte ich ein Jahr bis zum high-school-Abschluß in Concord/Kalifornien. Nach meiner Rückkehr legte ich 1965 in Berlin die Reifeprüfung mit Erfolg ab.

Nach einer zwölfmonatigen Grundausbildung bei der Bundeswehr begann ich im WS 1966/67 das Medizinstudium an der FU Berlin, wo ich 1972 das medizinische Staatsexamen ablegte.

Seit dem Ableisten meiner Medizinalassistentenzeit bin ich als Assistenzarzt in der chirurgischen Abteilung des St. Hildegard-Krankenhauses Berlin tätig.